

高效液相色谱法测定复方庆大霉素滴眼液中双氯芬酸钠的含量及有关物质

姜 雯, 白凤清, 孙德伟¹ (辽宁省药品检验所, 沈阳 110023; ¹沈阳东宇药业有限公司)

摘要: 用高效液相色谱法测定复方庆大霉素滴眼液中双氯芬酸钠的含量及双氯芬酸钠的有关物质。以 Diamonsil C₁₈ 为色谱柱, 0.03mol L⁻¹ 磷酸溶液 - 0.2 % 醋酸的甲醇溶液 (350 : 650) 为流动相, 检测波长 222nm, 进样 20μl。双氯芬酸钠在 0.5~10.0μg 的范围内, 与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程: $Y = 1546294X - 4715$ ($r = 0.99996$); 含量测定的重复性 RSD 为 0.22 % ($n = 6$), 回收率为 99.8 %; 检出限为 0.6ng, 定量限为 2ng。方法灵敏度高, 重现性好, 专属性强, 可用于控制复方双氯芬酸钠滴眼液的质量。

关键词: 双氯芬酸钠; 高效液相色谱法; 含量测定; 有关物质

中图分类号: R927.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002 - 7777 (2003) 09 - 0582 - 03

Determination of Diclofenac Sodium and Related Substances in Compound Gentamycin Sulfate Eye Drops by HPLC

Jiang Wen, Bai Fengqing and Sun Dewei¹ (Liaoning Provincial Institute for Control of Drug Products, Shenyang, 110023; ¹Shenyang Dongyu Pharmaceutical Co. Ltd.,)

ABSTRACT To determine assay of diclofenac sodium and its related substances in compound gentamycin sulfate eye drops by HPLC method. Method: ODS column was applied, using 0.03mol L⁻¹ phosphoric acid - 0.2 % acetic acid in methanol as mobile phase. Injection volume was 20μl and detection wavelength 210nm. Result: peak area of diclofenac sodium was in a good linear correlation with injection quantity within the range of 0.5~10.0μg. Regression equation was $Y = 1546294X - 4715$ ($r = 0.99996$). RSD of determination was 0.22 % ($n = 6$). Conclusion: The method has high sensitivity and reproductivity. It can be used for quality control of compound gentamycin sulfate eye drops. **KEY WORDS** HPLC; diclofenac sodium; assay; related substances

复方庆大霉素滴眼液为非甾体激素消炎镇痛药—双氯芬酸钠与氨基糖苷类抗生素—硫酸庆大霉素的复方制剂。具有消炎镇痛及抗菌作用。本文建立的 HPLC 法, 操作简便, 灵敏度高, 重现性好, 专属性较强, 双氯芬酸钠与双氯芬酸醇、双氯芬酸醛及 Voltindole 等杂质均能较好地分离, 且辅料及庆大霉素在此色谱系统中均无干扰, 适用于控制该产品的质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪: LC-10AD 输液泵 (日本岛津公司), SPD-10A 紫外检测器 (日本岛津公司), Ckchrom 色谱工作站 (天津基恩测试仪器公司); TU-1221 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器设

备公司)。

1.2 试剂

复方庆大霉素滴眼液 (四类新药, 规格: 5ml: 含庆大霉素 1.5 万单位; 双氯芬酸钠 5mg, 批号: 20000801、20000802、20000803, 辽宁药品新技术研究所); 双氯芬酸钠对照品 (中国药品生物制品检定所); Voltindole (双氯芬酸钠的副产物)、双氯芬酸醇、双氯芬酸醛对照品 (北京药品检验所); 甲醇为色谱纯, 水超纯水为, 磷酸、冰醋酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (5μm, 150 × 4.6mm, 迪马公司); 流动相: 0.03mol L⁻¹ 磷酸溶液 (取磷

酸 2ml 加水至 1000ml) - 0.2 % 醋酸的甲醇溶液 (取冰醋酸 2ml 加甲醇至 1000ml) (350 350); 检测波长: 222nm; 流速: 1.2ml min⁻¹; 进样量: 20μl。

2.2 系统适用性试验

2.2.1 已知杂质的分离: 分别取双氯芬酸钠及双氯芬酸钠的已知杂质双氯芬酸醇、双氯芬酸醛及 Voltindole 适量。混合, 加水溶解制成溶液, 进样, 记录色谱图 (见图 1)。出峰顺序依次为 Voltindole、双氯芬酸醇、双氯芬酸钠、双氯芬酸醛, 各组分之间分离度较好。

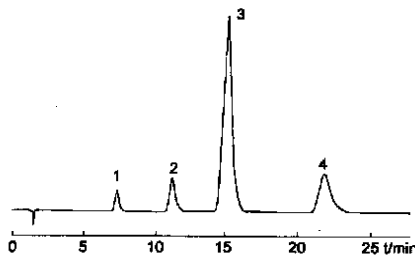


图 1 双氯芬酸钠已知杂质的 HPLC 图谱

1. Voltindole; 2. 双氯芬酸醇; 3. 双氯芬酸钠; 4. 双氯芬酸醛

2.2.2 降解产物的分离: 将样品经酸、碱、高温、强光破坏后, 各降解产物峰与主峰均获得良好分离, 且保留时间均在主峰保留时间的 2 倍以内。

2.2.3 取本品适量, 加流动相制成每 1ml 中含双氯芬酸钠 0.1mg 的溶液, 采用不同品牌的色谱柱, 分别试验, 结果见表 1。

表 1 不同色谱柱的试验结果

固定相牌号	生产厂家	理论塔板数	分离度
Diamonsil	迪马公司	3000~5000	> 1.5
Kromasil	天津凯德公司	> 6000	> 1.5
Puresil	Waters 公司	4000~5000	> 1.5

从上述结果可以看出, 双氯芬酸钠峰的理论塔板数均为 3000 以上, 各杂质峰与主峰的分离度均大于 1.5, 因此规定理论塔板数按双氯芬酸钠峰计应大于 3000, 杂质峰与主峰的分离度应大于 1.5。

2.3 线性关系考察

精密称取在 105 °C 干燥至恒重的双氯芬酸钠对照品 124.8mg, 置 50ml 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 0.5、1、2、4、6、8、10ml 至 50ml 容量瓶中, 加流动相至刻度。分别取 20μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积 (Y) 对进样量 (X) 绘制标准曲线, 回归方程为: $Y = -4715 + 1546294X$ $r = 0.99996$ 。双氯芬酸钠在进样量 0.5~10.0μg 的范围内, 峰面积与进样量之

间呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

取试验用对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱峰面积, 相对标准偏差 RSD 为 0.16 %。

2.5 重复性试验

取同一批样品, 按“样品测定”项下的方法测定 6 次, 平均含量为 99.4 %, 相对标准偏差 RSD 为 0.22 %。

2.6 溶液稳定性试验

将试验用样品溶液在室温放置 6 小时, 分别于 0、2、4、6 小时取 20μl 进样, 记录色谱峰面积, 相对标准偏差 RSD 为 0.11 %。

2.7 检出灵敏度

取双氯芬酸钠对照品加流动相溶解并逐步稀释, 分别取 20μl, 注入液相色谱仪, 测得最低检出量为 0.6ng (信噪比 3 : 1); 定量限为 2ng (信噪比 10 : 1), 相当于样品进样量的 0.1 %。

2.8 回收率试验

取本品辅料及双氯芬酸钠对照品, 分别按处方的 80 %、100 %、120 % 投料制备样品, 照“样品测定”项下的方法试验, 结果见表 2。

表 2 回收率试验结果

	投料量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
80 %	20.51	20.43	99.6	99.8	0.35
	20.18	20.04	99.3		
100 %	25.01	24.96	99.8		
	25.22	25.21	100.0		
120 %	30.44	30.53	100.3	99.6	
	29.98	29.86	99.6		

2.9 样品含量测定方法

精密量取本品 5ml, 置 50ml 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 取 20μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取在 105 °C 干燥至恒重的双氯芬酸钠对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中含 0.1mg 的溶液, 同法测定。按外标法以峰面积计算, 即得。按此方法测定三批样品, 含量分别为: 99.4 %、99.6 %、99.6 %。

2.10 样品有关物质测定方法

精密量取本品适量, 加流动相制成每 1ml 中含双氯芬酸钠 0.1mg 的溶液, 作为供试品溶液; 精密量取适量, 加流动相制成每 1ml 中含双氯芬酸钠 1μg 的溶液, 作为对照溶液。取对照溶液 20μl 注入液相色谱仪, 调节仪器灵敏度, 使主成份峰高为满

量程的 10~20%，再取上述两种溶液各 20 μ l 注入液相色谱仪，记录色谱图至主峰保留时间的 2 倍。按此方法测定三批样品，有关物质总和分别为：0.3%、0.2%、0.2%（色谱图见图 2）。

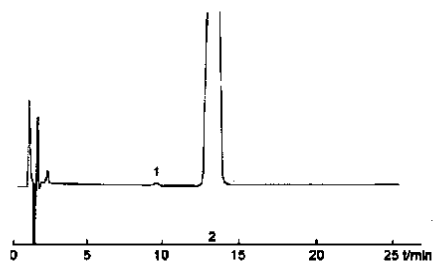


图 2 样品有关物质图谱

1. 杂质峰；2. 双氯芬酸钠峰

3 讨论

3.1 检测波长的选择

以流动相为溶剂，绘制本品的紫外吸收图谱，本品在 222nm 和 275nm 的波长处有最大吸收，在 222nm 的波长处吸收系数最大，且有关物质均能检出，对主峰无干扰，因此选 222nm 作为检测波长（见图 3）。

3.2 辅料及溶剂的影响

取按处方（除双氯芬酸钠以外）配制的辅料溶液 2.5ml，置 25ml 容量瓶中，加流动相至刻度，取

20 μ l，注入液相色谱仪，记录色谱图（见图 4）。本品辅料及溶剂在 3.5 分钟之前出峰，对样品测定无干扰，计算有关物质时应除去与主峰相对保留时间小于 0.24 的峰。

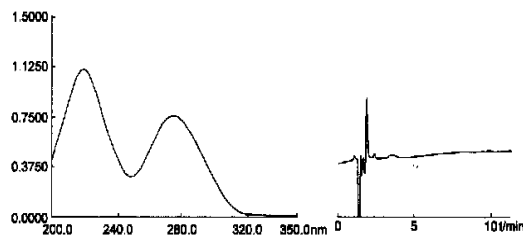


图 3 样品在流动相中的紫外吸收图谱

图 4 辅料的 HPLC 图谱

3.3 从线性、回收率、重现性、溶液稳定性等试验结果可以看出，用 HPLC 法测定复方庆大霉素滴眼液中双氯芬酸钠的含量，准确性高，重现性好，且操作简便快速。

3.3 在本文介绍的色谱条件下，双氯芬酸钠与双氯芬酸醇、双氯芬酸醛、Voltindole 等杂质及降解产物均能获得良好的分离，灵敏度高，专属性强，适用于有关物质的测定。

参考文献：

[1] 中国药典 [S]. 二部，2000：75

RP - HPLC 法测定复方安乃近片中安乃近和氨基比林的含量

欧阳晓玫，何英梅，贺军权（甘肃省药品检验所，兰州 730000）

中图分类号：R927.2 文献标识码：A 文章编号：1002 - 7777 (2003) 09 - 0584 - 02

复方安乃近片为安乃近和氨基比林的复方制剂，属临床常用的解热镇痛药。卫生部标准^[1]采用碘量法和酸碱滴定法分别测定安乃近和氨基比林的含量。其中氨基比林需用无水苯提取，蒸干滴定，毒性大，方法繁琐费时，影响因素多。本文采用 RP - HPLC 法，可同时测定安乃近和氨基比林的含量，专属性强，灵敏度高，方法简便，结果准确，且尚未见文献报道。

1 仪器与试药

1.1 仪器

美国 SP8810 型高效液相色谱仪；SP100 型紫外检测仪；SP440 型积分仪；TU - 1800SPC 紫外分光光度计。

1.2 试药

安乃近对照品（批号：0002 - 9504，中国药品生物制品检定所）、氨基比林对照品（原料精制而成，含量为 99.4%，方法为酸碱滴定法^[2]），复方安乃近片为自制品，乙腈为色谱纯，甲醇、三乙胺、氢氧化四丁基铵为分析纯，水符合《中国药典》2000 年版规定。